

Experimentelle Untersuchungen zum Thema
der hyaluronidasehemmenden Wirkung
der Antiphlogistica

von

RUDOLF SCHEUFELE

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität
München

Direktor: Professor Dr. W. Seitz

Experimentelle Untersuchungen zum Thema der hyaluroni-
dasehemmenden Wirkung der Antiphlogistica



Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der Zahnheilkunde
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Rudolf Scheufele

aus

Ulm/Donau

1958

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent: Professor Dr. W. Seitz

Dekan: Professor Dr. W. Büngeler

Tag der Mündlichen Prüfung: 11. Februar 1958

Meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis

Problematik	5
Eigene Versuche	8
Methodik	8
Versuchsreihen	9
Kontrolle der Pupillenweite	13
Berechnung und statistische Auswertung	15
Versuchsfehler	19
Diskussion	21
Tabellen	24
Zusammenfassung	54
Literaturverzeichnis	55

Problematik

Die in der Zahnheilkunde nach Eingriffen therapeutisch angewandten analgetisch-antiphlogistisch wirksamen Substanzen sind Gegenstand zahlreicher Veröffentlichungen. So gibt z.B. S c h u c h a r d t ¹ einen Überblick über die gebräuchlichen Mittel und speziellen Wirkungen. Neben der analgetischen Wirkung durch Dämpfung der Schmerzperzeption der Großhirnrinde ist jedoch auch die Einwirkung auf peripher gelegene sensible Qualitäten von Bedeutung. Der antiphlogistische Effekt, der nicht zuletzt sekundär auch ein analgetischer ist, beruht auf der Hemmung der Exsudation und einer beschleunigten Rückresorption der Gewebsflüssigkeit. Auch die Reduktion der entzündungsbedingten Hyperämie trägt zur Tatsache einer antiphlogistischen Wirkung eines Medikamentes wesentlich bei. Die Angriffspunkte der chemisch völlig verschiedenen Gruppen der Analgetica-Antiphlogistica sind also sehr vielseitig. Gegenstand dieser Betrachtung soll hauptsächlich die Permeabilitätswirkung sein. Sie spielt nicht nur eine Rolle im Rahmen der Gesamtwirkung der Medikamente als Analgetica oder Antiphlogistica sondern auch isoliert zur Bekämpfung speziell der postoperativen Schwellungen als direkte Folge der operativen Gewebstraumatisierung. H a r d t ² empfiehlt hier besonders Irgapyrin, welches neben guten analgetischen und antipyretischen Eigenschaften einen ausreichenden abschwellenden oder sogar schwellungsverhütenden Effekt besitzt. K r i s t e n ³ hat ebenfalls ein Präparat dieser Gruppe (Osadrin) klinisch geprüft und einen guten antiödematösen Effekt beobachtet. Vom Ircodenyl sah G ö b l ⁴ neben dem analgetischen Effekt auch eine Verhinderung größerer Schwellungen nach operativen Eingriffen im Wundbereich. Die permeabilitätsherabsetzende Wirkung der Antipyretica-Analgetica wurde von

D o m e n j o z ⁵ u. Mitarb. eingehend bearbeitet, wobei ihnen als Test die Hemmung des Formalinoedems, des Dextransoedems und des Hyaluronidaseoedems dienten. Am Beispiel des Formalinoedems fanden seine Mitarbeiter, daß die bei Normaltieren auftretende Hemmung bei adrenalektomierten Tieren ausbleibt, dagegen bei hypophysektomierten Tieren erhalten bleibt. M a t h i e s ⁶ und M a t h i e s u. J a n k o w s k i ⁷ haben diese Versuche auf die Hyaluronidasehemmung übertragen und unter Anwendung eines Spreading-Testes festgestellt, daß die Hyaluronidasehemmung von Acetylsalicylsäure bei adrenalektomierten Ratten ausbleibt, bei hypophysektomierten Ratten aber erhalten ist. Diese Befunde stehen insofern im Gegensatz zu den Ergebnissen von D e w e s ⁸, als dieser unter Acetylsalicylsäure keine signifikante Hyaluronidasehemmung sah, allerdings bildete dieser Befund im Vergleich zu dem Effekt anderer untersuchter Stoffe bereits eine unerklärliche Ausnahme. Wenn man die Cholesterin- und Ascorbinsäureabnahme der Nebennierenrinde als Zeichen der inkretorischen Aktivität der Nebennierenrinde ansehen will, die bei hypophysektomierten Tieren fehlt ⁵, so ist der Schluß zu ziehen, daß nicht die inkretorische Aktivität der Nebennierenrinde - wie vielfach vermutet - sondern das Nebennierenmark für das Zustandekommen der in-vivo-Hyaluronidasehemmung notwendig ist. Weitere Versuche von M a t h i e s ^{9, 10} u. Mitarb. ^{11, 12} bestätigen diese Tatsache neben Acetylsalicylsäure auch für Phenylbutazon (Butazolidin) und Cortisonderivate. M a t h i e s ¹³ und M a t h i e s u. J a n k o w s k i ⁷ haben, um die Wirkungsweise der Hyaluronidasehemmung durch die Antiphlogistica weiter aufzuklären, die hyaluronidasehemmende Wirkung des Adrenalin bei Normal- und adrenalektomierten Ratten geprüft. Dies geschah aus dem Gedanken heraus, daß Adrenalin als Hormon des Nebennierenmarkes auch bei adrenalektomierten Ratten eine Hyaluronidasehemmung hervorrufen müßte, falls die Anwesenheit

des Nebennierenmarkes für eine Hyaluronidasehemmung z.B. durch Acetylsalicylsäure erforderlich sein sollte. Die Ergebnisse zeigen, daß 6 γ Adrenalin/100 g Tier sofort nach i.v. Injektion keine Hyaluronidasehemmung ergeben, dagegen 30-60 Minuten nach der Injektion eine deutliche Hemmung von 43 % und 60-105 Minuten nach der Applikation wieder einen Rückgang auf 26 %. 105-180 Minuten nach Adrenalin-gabe war eine Hemmung praktisch nicht mehr nachweisbar. Vergleichsversuche an nicht adrenalektomierten Kontroll-tieren 40 Minuten nach Adrenalin-Injektion ergaben, daß der Hemmwert von 32 % mit den Werten bei adrenalektomierten Ratten 30-60 Minuten nach der Injektion etwa in der glei-chen Größenordnung liegt. Interessant ist dabei, daß die Hyaluronidasehemmung auf Adrenalin nicht unter der direkten Adrenalin-Wirkung auftritt sondern erst in der Gegenregu-lationsphase.

M a t h i e s ^{14, 15, 16} u. Mitarb. ^{12, 17, 18} haben den Katecholamingehalt der Nebennieren zu verschiedenen Zei-ten nach i.v. Injektion von Acetylsalicylsäure, Phenyl-butazon und auch Hydrocortison bestimmt und aus den Werten eine deutliche Katecholaminausschüttung aus dem Neben-nierenmark von mindestens etwa 6 γ /100 g Tier ersehen. Die angewandte Katecholaminbestimmungsmethode von B r ü g g e -m a n n, K a r g und K ä p p e l e r ¹⁹ erfaßt die Ge-samtkatecholamine, also Adrenalin und Arterenol zusammen, wobei beide Substanzen die gleichen Extinktionswerte bei der photometrischen Bestimmung liefern. Andere gelegentlich vorkommende Katecholamine wie z.B. Hydroxythyramin konnten vernachlässigt werden, da sie papierchromatographisch nicht nachgewiesen werden konnten. Der normale Arterenolanteil des Nebennierengehaltes an den Gesamtkatecholaminen der Ratte ist bekannt und wird von H ö k f e l t ²⁰ mit 14 %, die des Adrenalin mit 86 % angegeben. Dagegen ist der Anteil beider Katecholamine bei einer Ausschüttung durch verschie-

dene Substanzen unterschiedlich. Ehe die Differenzierung im Hinblick auf die zur Diskussion stehenden Fragestellung in Angriff genommen wird, sollte geklärt werden, ob und in welchem Ausmaß auch Arterenol als zweites Nebennierenmark-Hormon eine Hyaluronidasehemmung bedingt. Zum Vergleich wurden die Verhältnisse unter Adrenalin nachgeprüft und Untersuchungen über die Dosisabhängigkeit der Wirkung angestellt.

Eigene Versuche

Methodik

Es wurden männliche weiße Ratten im Gewicht von 150 bis 200 g verwendet. Die Hyaluronidasehemmung wurde durch Anwendung eines Spreading-Testes gemessen und errechnet. Die Durchführung der Versuche erfolgte in Evipannarkose (30 mg Evipan-Natrium/100 g Tier s.c.), wobei nach W i l h e l m i ²¹ kein störender Einfluß auf die Aktivität der Hyaluronidase besteht. Es wurden zu verschiedenen Zeiten nach i.v. Injektion der auf ihre Hyaluronidasehemmung zu prüfenden Substanzen je eine intrakutane Quaddel von 0,1 ccm einer Evansblaulösung (mit physiol. NaCl-Lösung auf 1 % einer 6 %igen Stammlösung verdünnt) und eine Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel gesetzt. Zur Herstellung der Farbstoff+Hyaluronidase-Lösung wurde eine Trockenampulle Hyaluronidase (Kinetin), enthaltend 150 IE. in 2 ccm der oben genannten Evansblaulösung (1 % der 6 %igen Stammlösung) gelöst, so daß bei der Injektion 0,1 ccm 7,5 IE. zur Wirkung kamen. Das Setzen der Quaddeln erfolgte streng intracutan mit einer dünnen Kanüle in die am schonendsten mit Pilca enthaarte Bauchhaut. Es wurde die Diffusionsgeschwindigkeit des Farbstoffes an der nach 10 Minuten nach der Quaddelinjektion erreichten Ausbreitung registriert, indem die Kon-

turen auf einen Zelluloidstreifen übertragen und planimetrisch ausgemessen wurden. Nach M a d i n a v e i t i a ²² verläuft das Spreading zweiphasisch und lediglich die innerhalb der ersten 10 Minuten ablaufende Reaktion ist sicher ein echter Effekt der Hyaluronidase. Nach G i b b i a n ²³ beruht die durch Hyaluronidase verstärkte aktive Diffusion einer intracutan gesetzten Quaddel auf dem Druck, den das Flüssigkeitsdepot auf seine Umgebung ausübt. Nach Ablauf der ersten 10 Minuten dürften dann Resorptionsmechanismen im Vordergrund stehen.

Die Adrenalektomien wurden in Aethernarkose durchgeführt. Die adrenalektomierten Tiere wurden 48 Stunden nach der Operation in Versuch genommen, da nach Untersuchungen von K a r g ²⁴ auf Grund von Messungen des nebennierenbedingten Grundumsatzes und der Ergebnisse des Thorn-Testes in dieser Zeit eine Regeneration von funktionstüchtigem akzessorischem Nebennieren-Gewebe kaum zu befürchten ist. Innerhalb von 2-4 Tagen nach der Adrenalektomie ist der Corticoid-Gehalt des Blutes abgesunken, der Grundumsatz zeigt sein Minimum und der Thorn-Test ist negativ, ein Wiederanstieg durch etwa regeneriertes akzessorisches Nebennieren-Gewebe tritt erst nach dieser Zeit in Erscheinung. Nach B a c h m a n n ²⁵ zeigen 8 % der normalen Ratten mikroskopisch feststellbare akzessorische Rindenknötchen unterschiedlicher Lokalisation, dagegen längere Zeit nach Adrenalektomie 20-25-70 % (je nach Autor, Genauigkeit der Untersuchung und Tierstamm). C a n a l i s ²⁶ sah bei Hunden und Kaninchen erst 2 Tage nach Teiladrenalektomie die erste Zunahme der Mitosen.

Die Versuchsreihen 1-3 dienten dem Vergleich mit den von M a t h i e s ¹³ und M a t h i e s u. J a n k o w s k i ⁷ erhobenen Befunden unter 6 γ Adrenalin.

1. Versuchsreihe

Es wurden bei adrenalektomierten Ratten zunächst reine Farbstoffquaddeln und Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddeln in oben

angegebener Zusammensetzung bzw. Verdünnung gesetzt und deren Ausbreitung nach Ablauf von 10 Minuten gemessen. Sodann wurden 6 γ Adrenalin i.v. (in die Femoralvene) injiziert (0,25 ccm/100 g Ratte). Es konnten pro Minute nur 1 γ Adrenalin i.v. injiziert werden, größere Mengen in kürzerer Zeit wurden nicht vertragen, die Tiere kamen im Lungenödem ad exitum. Es sind also im Folgenden Injektionen von 6 γ Adrenalin (und ebenso Arterenol) in oben genanntem Applikationsmodus zu verstehen, wobei die Beendigung der Injektion als Zeitpunkt der Injektion angesehen wurde. 15 Minuten nach der Adrenalinapplikation wurde erneut eine Farbstoff- und Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel gesetzt. Die ebenfalls nach 10 Minuten nach oben angegebener Methode gemessene Ausbreitung wurde mit den Werten vor Adrenalin-Injektion nach unten angegebener Rechnungsweise in Beziehung gesetzt. Es ergab sich keine Hemmung der Hyaluronidase (Tabellen 1, 21).

2. Versuchsreihe

In dieser Reihe wurde bei sonst gleicher Versuchsanordnung die Hyaluronidasehemmung durch 6 γ Adrenalin 45 Minuten nach i.v. Injektion festgelegt. Es zeigte sich hier eine Hyaluronidasehemmung von 36,3 % (Tabellen 2, 21).

3. Versuchsreihe

90 Minuten nach 6 γ Adrenalin war eine Hyaluronidasehemmung von 30,4 % feststellbar (Tabellen 3, 21).

Die folgenden Versuchsreihen sollten das Ausmaß der Hyaluronidasehemmung zu verschiedenen Zeiten nach i.v. Applikation von 6 γ Arterenol klären:

4. Versuchsreihe

15 Minuten nach 6 γ Arterenol (0,25 ccm/100 g Ratte) besteht mit -7,4 % noch keine Hemmung (Tabelle 4, 22).

5. Versuchsreihe

30 Minuten nach Injektion von 6 γ Arterenol beträgt die Hemmung bereits 32,4 % (Tabellen 5, 22).

6. Versuchsreihe

Mit einem Wert von 48,2 % erreicht die Hemmung durch 6 γ Arterenol 45 Minuten nach Injektion ihr Maximum (Tabellen 6, 22).

7. Versuchsreihe

Die Ergebnisse dieser Versuchsreihe zeigten, daß 90 Minuten nach der Injektion von 6 γ Arterenol die Hemmung wieder auf 26,9 % zurückgegangen ist (Tabellen 7, 22).

In den weiteren Reihen mit variiertem Dosierung der i.v. zugeführten Katecholamine sollten eine etwaige Dosisabhängigkeit des Ausmaßes und Zeitpunktes der Hyaluronidasehemmung festgestellt werden.

8. Versuchsreihe

Unmittelbar nach i.v. Applikation von 1 γ Adrenalin (0,25 ccm/100 g Ratte) besteht mit 4,6 % keine signifikante Hemmung (Tabellen 8, 23).

9. Versuchsreihe

15 Minuten nach 1 γ Adrenalin i.v. ist bereits eine Hemmung von 52,5 % festzustellen (Tabellen 9, 23).

10. Versuchsreihe

45 Minuten nach Applikation von 1 γ Adrenalin ging die Hemmung bereits wieder auf 29,7 % zurück (Tabellen 10, 23). Zu diesem Zeitpunkt wurden nach 6 γ Adrenalin die Maximalwerte gemessen (Tabellen 2, 21).

11. Versuchsreihe

Wurde die zweite Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel sofort nach Injektion von 1 γ Arterenol (0,25 ccm/100 g Ratte) gesetzt, so war mit 1,9 % keine Hemmung festzustellen (Tabellen 11, 24).

12. Versuchsreihe

Ähnlich wie nach 1 γ Adrenalin so war auch bei 15 Minuten nach i.v. Applikation von 1 γ Arterenol bereits eine Hyaluronidasehemmung von 57,2 % zu registrieren (Tabellen 12, 24).

13. Versuchsreihe

30 Minuten nach 1 γ Arterenol betrug die Hyaluronidasehemmung noch 55,1 % (Tabellen 13, 24).

14. Versuchsreihe

45 Minuten nach 1 γ Arterenol ist dann ein Rückgang des Hemmwertes auf 35,9 % sichtbar (Tabellen 14, 24).

15. Versuchsreihe

90 Minuten nach 1 γ Arterenol sahen wir mit 2,2 % praktisch keine Hyaluronidasehemmung mehr (Tabellen 15, 24).

16. Versuchsreihe

15 Minuten nach 0,5 γ Adrenalin (0,25 ccm/100 g Ratte) besteht mit einem Wert von 9,8 % keine signifikante Hyaluronidasehemmung (Tabellen 16, 25).

17. Versuchsreihe

45 Minuten nach 0,5 γ Adrenalin ist mit 7,0 % ebenfalls keine Hemmung festzustellen (Tabellen 17, 25).

18. Versuchsreihe

15 Minuten nach 0,5 γ Arterenol (0,25 ccm/100 g Ratte) ist wie

nach 0,5 γ Adrenalin mit 12,1 % keine deutliche Hemmung der Hyaluronidaseaktivität zu verifizieren (Tabellen 18, 26).

19. Versuchsreihe

Auch 45 Minuten nach 0,5 γ Arterenol ist mit 9,2 % eine Hemmung nicht signifikant (Tabellen 19, 26).

20. Versuchsreihe

In diesem Versuch wurde gezeigt, daß mit einer physiologischen NaCl-Lösung in der gleichen Gesamtmenge der Injektionsflüssigkeit (0,25 ccm/100 g Ratte) wie in den Versuchsreihen 16 und 18, 15 Minuten nach i.v. Injektion mit 2,7 % keine Hyaluronidasehemmung auftritt (Tabellen 20, 27).

Kontrolle der Pupillenweite

Um einen tieferen Einblick in die zeitlichen Abläufe der Katecholaminwirkung zu gewinnen, wurde die Pupillenweite der Tiere im Verlauf der Versuche registriert. Hierbei verzichteten wir jedoch auf eine genaue Messung, da für unsere Fragestellung des zeitlichen Auftretens der Hyaluronidasehemmung während oder nach der Katecholaminwirkung eine grobe Registrierung ausreichend schien.

Der Ausgangswert bei allen Tieren war klein bis mittelgroß, im Durchschnitt ca. 1,5 mm. Nach 0,5 γ , 1 γ und 6 γ (die letztgenannte Dosierung 1 γ pro Minute injiziert) trat eine schnelle und extreme Pupillenerweiterung auf. Nach einigen Minuten verengerte sich die Pupille dann wieder, um nach 6 γ Adrenalin 20-25 Minuten und nach 1 γ Adrenalin 5-10 Minuten nach Beendigung der Injektion den Ausgangswert wieder erreicht zu haben. Nach 0,5 γ Adrenalin waren deutliche Unterschiede im zeitlichen Ablauf gegenüber der Dosis von 1 γ Adrenalin nicht festzustellen.

Entsprechend der anders gelagerten Natur des Arterenol waren auch die Ergebnisse der Pupillenreaktion abweichend. 0,5 γ und 1 γ Arterenol führten zu keiner feststellbaren Pupillenreaktion. Erst eine Dosis von 6 γ Arterenol ergab eine deutliche Pupillenerweiterung, die nach 5-8 Minuten nach Beendigung der Injektion wieder abzunehmen begann, um nach 20-25 Minuten wieder den Ausgangswert erreicht zu haben. Es zeigt sich hier die bei anderen Wirkungseffekten bekannte Tatsache, daß eine höhere Dosis Arterenol gegenüber dem Adrenalin notwendig ist, um einen sichtbaren Effekt zu erzielen (daß diese Regel allerdings für die Hyaluronidasehemmung selbst unter verschiedenen Adrenalin- und Arterenol-Dosen nicht zutrifft, zeigt diese Arbeit).

Die Registrierung der Pupillenweite zeigt vor allem im Zusammenhang mit den Ergebnissen der Hyaluronidasehemmung in ihrem zeitlichen Auftreten, daß die Hyaluronidasehemmung erst nach Abklingen der primären Katecholaminwirkung (sichtbar an der Pupillenreaktion) auftritt. Hierdurch wird verständlich, daß z.B. die Hyaluronidasehemmung nach 1 γ Adrenalin früher auftritt als nach 6 γ Adrenalin, weil die primäre Wirkung nach 1 γ eher beendet ist als nach 6 γ . Die Beobachtung des Auftretens der Hyaluronidasehemmung erst nach der eigentlichen Katecholaminwirkung wird ferner durch einen Fall unterstrichen, bei dem infolge abnormer Reaktion eines Tieres (Tier Nr. 25 in Versuchsreihe 10) die Pupillenerweiterung auf 1 γ Adrenalin 45 Minuten nach Injektion von 1 γ Adrenalin immer noch deutlich war und demzufolge auch die sonst in dieser Versuchsreihe bereits nach 15 Minuten auftretende Hyaluronidasehemmung noch ausblieb. Bei dem genannten Tier kehrte die Pupillenerweiterung schließlich nach weiteren 30 Minuten auf den Ausgangswert zurück, und eine zu dieser Zeit gesetzte Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel ergab verspätet eine Hemmung von 32,1 % (Tabelle 28).

Berechnung und statistische Auswertung

Der Flächeninhalt der 1. Stufe (10 Minuten nach Setzen der Farbstoffquaddel vor Injektion der Katecholamine) wurde als eine 100 %ige Hyaluronidasehemmung angenommen (eine Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel mit vollständig gehemmter Hyaluronidasewirkung hätte die gleiche Größe). Der Flächeninhalt der 2. Stufe (Ausdehnung nach 10 Minuten der vor der Injektion der Katecholamine gesetzten Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel) entspricht einer 0 %igen Hemmung. Unter Verwendung dieser beiden jeweiligen Festpunkte wurde die Hemmung der 3. Stufe (Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel nach Injektion der Katecholamine) in Prozenten errechnet (Tabellen 21 - 27).

Der statistischen Interpretation der Messergebnisse oblag die Beantwortung zweier Fragen:

1. Prüffrage: Weisen die drei Stufen einer Versuchsreihe insgesamt untereinander statistisch gesicherte Unterschiede auf?
2. Prüffrage: Besteht insbesondere ein statistisch gesicherter Unterschied zwischen der 2. und der 3. Stufe einer Versuchsreihe?

Zur Beantwortung dieser beiden Fragen wurden die Ergebnisse jeder einzelnen Versuchsreihe einer 2-fachen Varianzanalyse unterzogen. Sind N Tiere zu einer Versuchsreihe herangezogen worden, so wird hierbei die Gesamt-Varianz der 3N Messwerte in drei Teil-Varianzen aufgespalten, und zwar 1. in die Varianz zwischen den Tieren, 2. in die Varianz zwischen den Versuchsstufen und 3. in die Rest-Varianz. Diese Zerlegung der Gesamt-Varianz berücksichtigt, daß zwischen den Messwerten der Versuchstiere innerhalb der einzelnen Versuchsstufen eine Variabilität besteht (Varianz zwischen den Tieren) und daß zwischen den Werten eines Tieres in den verschiedenen

Stufen ebenfalls eine Variabilität besteht (Varianz zwischen den Stufen).

Schließlich weist die Wirkung der einzelnen Versuchsstufen auf die einzelnen Tiere eine individuelle Variabilität auf. Diese kommt in der Rest-Varianz zum Ausdruck. Darüberhinaus sind in der Rest-Varianz auch alle anderen, versuchstechnisch nicht erfassbaren, Streuungsfaktoren enthalten. Es wurde daher diese Rest-Varianz den statistischen Prüfungen als Fehler-Varianz zugrundegelegt.

Zur Beantwortung der 1. Prüffrage genügt es, die "Varianz zwischen den Stufen" mit der "Rest-Varianz" mittels des F-Testes (Varianz-Quotienten-Test) zu vergleichen. Ergibt sich hierbei, daß die "Varianz zwischen den Stufen" wesentlich größer ist als die "Rest-Varianz", so bedeutet dies, daß der Einfluss der einzelnen Versuchsstufen auf die Messergebnisse nicht mehr zufallsbedingt ist.

Zur Beantwortung der 2. Prüffrage wurde mittels des t-Testes (STUDENT-Test) untersucht, ob sich die Mittelwerte der 2. und der 3. Stufe jeder Versuchsreihe statistisch wesentlich voneinander unterscheiden, wobei auch dieser Prüfung die Rest-Varianz zugrundegelegt wurde.

In den Tabellen 21 bis 27, sind für jede Versuchsreihe Mittelwert ($\bar{x}$), Varianz (s^2) und Streuung (s) innerhalb der einzelnen Stufen enthalten. Außerdem ist für diejenigen Versuchsreihen, bei denen der t-Test eine statistische Sicherung der Hyaluronidasehemmung in der 3. Stufe gegenüber der 2. Stufe ergab, der aus der Stichprobe errechnete empirische Wert t_{emp} von t angegeben, sowie die Irrtumswahrscheinlichkeit p , mit der die Aussage, die 3. Stufe sei von der 2. wesentlich verschieden, behaftet ist.

In der Tabelle 29 findet sich eine Zusammenstellung der Ergebnisse die sich aus der Auswertung der Varianzanalysen ergeben.

Bartlett-Test. Voraussetzung für die Anwendung der Varianz-Analyse ist die Homogenität der Varianzen innerhalb der einzelnen Versuchsstufen. Zur Prüfung der Frage ob diese Voraussetzung als gegeben angesehen werden kann, wird aus den Werten der Stichprobe ein empirischer Wert $\chi^2_{\text{emp.}}$ errechnet und geprüft, ob $\chi^2_{\text{emp.}}$ kleiner ist als derjenige Wert χ^2_p der χ^2 -Verteilung, dem die Überschreitungswahrscheinlichkeit 5 % entspricht. In der Tabelle 29 sind $\chi^2_{\text{emp.}}$, χ^2_p und die Überschreitungswahrscheinlichkeit p für χ^2_p angegeben. Da $\chi^2_{\text{emp.}}$ bei einigen Versuchsreihen die 5 %-Sicherheits-Schwelle überschreitet, wurde in diesen Fällen der χ^2_p -Wert für die Überschreitungswahrscheinlichkeit 1,0 % aufgeführt.

Der Bartlett-Test ergibt, bis auf die Versuchsreihen 1 bis 4 sowie 13 und 20, die für die Durchführung der Varianz-Analyse theoretisch notwendige Streuungshomogenität. Durch verschiedene Autoren (V.d. Waerden) wurde jedoch in letzter Zeit darauf hingewiesen, daß praktisch die Varianz-Analyse auch in solchen Fällen zu brauchbaren Ergebnissen führt, in denen keine Streuungshomogenität vorliegt, sofern die Inhomogenität nicht zu groß ist und die Zahl der Versuchseinheiten mindestens 4 beträgt. Wir haben daher auch in denjenigen Fällen die Varianz-Analyse durchgeführt, in denen die Streuungshomogenität nicht streng gegeben war.

1. Prüffrage. $F_{\text{emp.}}$ ist der aus den Messergebnissen errechnete empirische Varianz-Quotient zwischen der "Varianz zwischen den Stufen" und der "Rest-Varianz". F_p ist derjenige Wert einer F-Verteilung zu gewissen Freiheitsgraden, dem die unter p angegebene Überschreitungswahrscheinlichkeit zukommt. Da $F_{\text{emp.}}$ durchweg größer ist als der zur Überschreitungswahrscheinlichkeit 1,0 % gehörige Wert der F-Verteilung, ist die Varianz zwischen den Stufen für alle Versuchsreihen wesentlich größer als die Rest-Varianz, wobei die Irrtumswahrscheinlichkeit für diese Aussage höchstens den unter p angegebenen Wert besitzt.

Die durchweg hohen Werte von $F_{\text{emp.}}$ zeigen ebenso wie die Zerlegung der Gesamt-Varianz der einzelnen Versuchsreihen, daß die Variabilität der Flächeninhalte der Quaddeln primär durch die Versuchsstufen hervorgerufen wird. Die Unterschiede zwischen den einzelnen Stufen sind somit nicht mehr zufällig, und können daher als kausal durch die unterschiedliche Hyaluronidasehemmung in den einzelnen Stufen bedingt, angesehen werden.

2. Prüffrage. $t_{\text{emp.}}$ ist der aus den Werten der Stichprobe errechnete empirische t-Wert für den Vergleich der Mittelwerte der 2. und der 3. Stufe. Ist $t_{\text{emp.}}$ größer als derjenige Wert t_p einer t-Verteilung mit entsprechenden Freiheitsgraden, dem die Überschreitungswahrscheinlichkeit $p = 1 \%$ entspricht, so kann der Unterschied zwischen den beiden Stufen als gesichert angesehen werden. Ist $t_{\text{emp.}}$ sogar größer als der Wert t_p für die Überschreitungswahrscheinlichkeit $p = 0,1 \%$, so ist der Unterschied zwischen den Mittelwerten dieser beiden Stufen streng gesichert.

Die Werte $t_{\text{emp.}}$, t_p und die zu t_p gehörige Überschreitungswahrscheinlichkeit p sind nur in den Fällen angegeben worden, in denen p höchstens 5% beträgt.

In denjenigen Fällen, in denen der Unterschied der Mittelwerte der 2. und 3. Versuchsstufe statistisch mittels des t-Test gesichert werden konnte, ist die zugehörige Irrtumswahrscheinlichkeit durchweg höchstens $1,0 \%$.

Lediglich bei der Versuchsreihe 5 liegt $t_{\text{emp.}}$ unterhalb der 1% Sicherheitsschwelle. Da jedoch genau genommen nur interessiert, ob der Mittelwert der 3. Stufe statistisch wesentlich kleiner ist als derjenige der 2. Stufe, so ist die Überschreitungswahrscheinlichkeit von t_p für diese einseitige Fragestellung $2,5 \%$, so daß also auch für diese Versuchsreihe die Hyaluronidasehemmung als gesichert angesehen werden kann.

Bei den Versuchsreihen, bei denen eine Hyaluronidasehemmung statistisch nicht nachweisbar ist, ist auch die aus den Mittelwerten

rechnete prozentuale Hemmung durchweg klein. Lediglich die Versuchsreihe 3 weist eine 30,4 %ige Hemmung auf, die wegen der außergewöhnlichen großen Varianz der 2. Versuchsstufe statistisch nicht gesichert werden kann ($t_{\text{emp.}} = 2,03$, $t_{0,05} = 2,78$).

Varianz-Analyse. Die Varianz-Analysen für die einzelnen Versuchsreihen finden sich auf den Tabellen 30 bis 49. In den Tabellen bedeutet jeweils

n: Zahl der Freiheitsgrade
SAQ: Summen-Abstands-Quadrat
MAQ: Mittleres-Abstands-Quadrat (Varianz).

Diesen Tabellen können die Freiheitsgrade der Prüfverteilungen die bei der Untersuchung der 1. und der 2. Prüffrage herangezogen wurden entnommen werden. Für die F-Verteilung bei der 1. Prüffrage ist n_1 jeweils der Freiheitsgrad der Varianz zwischen den Stufen, n_2 der Freiheitsgrad der Rest-Varianz. Für die t-Verteilung der 2. Prüffrage kommt stets der Freiheitsgrad der Rest-Varianz in Frage.

Versuchs-Fehler.

Um zu prüfen, ob die hyaluronidasehemmenden Substanzen (in diesem Fall die Katecholamine) bereits auf die reine Farbstoff-Quaddel einen hemmenden Effekt ausüben, wurde bei einigen Versuchsreihen zusammen mit der Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel in der 3. Stufe eine reine Farbstoff-Quaddel gesetzt.

Ein Vergleich dieser Farbstoff-Quaddeln mit denjenigen der 1. Stufe ergibt, daß die neuen Farbstoff-Quaddeln nur zufällig von denen der 1. Stufe abweichen. In Tabelle 50 ist für die fraglichen Versuchsreihen die Varianz zwischen den Farbstoff-Quaddeln angegeben (Fehler-Varianz) und mit der Rest-Varianz aus der Varianz-Analyse verglichen worden.

$F_{\text{emp.}}$ ist der aus der Rest-Varianz und der Fehler-Varianz

gebildete empirische Varianz-Quotient, F_p der Vergleichswert einer F-Verteilung, dem die Überschreitungswahrscheinlichkeit p entspricht.

Zahlenmäßig ist die Rest-Varianz durchweg größer als die Fehler-Varianz; streng gesichert ist der Unterschied der beiden Varianzen jedoch nur bei den Versuchsreihen 16, 18 und 20. Als wesentlich gleich können andererseits die beiden Varianzen bei den Versuchsreihen 4, 7, 8, 10, 13 und 14 angesehen werden. Für die restlichen Versuchsreihen kann aus den vorliegenden empirischen Daten keine eindeutige Aussage über die Größenrelation der fraglichen Varianzen gemacht werden.

Faßt man die Messwerte für die beiden reinen Farbquaddeln in der 1. und in der 3. Stufe als eine Doppelbestimmung auf, so kann man daraus eine Abschätzung des reinen Versuchsfehlers (bedingt durch Ungenauigkeiten bei der Planimetrierung der Quaddeln, Differenzen im Zeitpunkt der Bestimmung und andere Ursachen) gewinnen. Der in Tabelle 50 angegebene mittlere Fehler stellt in diesem Sinne eine obere Abschätzung des mittleren Fehlers bei der Bestimmung des Flächeninhaltes der Farbquaddeln dar. Es ergibt sich, daß die Methode sehr genau ist.

Da unter den auf die Beeinflussung der reinen Farbstoffquaddel geprüften Versuchsreihen sich auch Hyaluronidasehemmungen von über 50 % befinden (Versuchsreihen 12 und 13), wobei die Ausdehnung der Farbstoffquaddeln nach Einwirkung des hyaluronidasehemmenden Stoffes nicht wesentlich von der Größe der Farbstoffquaddel vor der Injektion abweicht, ist gesichert, daß ein Einfluß einer Hyaluronidasehemmung auf die reine Farbstoffquaddel ohne Hyaluronidase nicht besteht.

Diskussion

Die Ergebnisse der Versuchsreihen 1 bis 3 bestätigen die Ergebnisse von Mathies¹³ und Mathies u. Jankowski⁷, nach denen in der Gegenregulation auf eine i.v. Adrenalingabe bei adrenaletomierten Ratten eine Hyaluronidasehemmung eintritt.

Die Hauptversuche der Versuchsreihen 4 bis 7 erstreckten sich auf Arterenol. Die Resultate beweisen, daß neben Adrenalin (Versuchsreihen 1-3) auch Arterenol eine Hyaluronidasehemmung bei adrenaletomierten Ratten hervorruft, und zwar in der gleichen Dosis von 6 γ /100 g Tier mit dem Maximum zum gleichen Zeitpunkt und in fast demselben Ausmaß (der Prozentsatz der Hemmung war unter Adrenalin etwas geringer als unter Arterenol). Es zeigt sich also, daß auf dem Sektor der Hyaluronidasehemmung Adrenalin und Arterenol in gleicher Dosis denselben Effekt in etwa gleicher Stärke zeigen, im Gegensatz zu anderen Wirkungen der beiden Nebennierenmark-Hormone. So ist bekannt, daß die auf die Katecholamine auftretende Lymphopenie, Eosinopenie und Neutrophilie (Dougheerty, u. White²⁷) unter Arterenol nicht in dem gleichen Ausmaß zustandekommt bzw. erst in weit höheren Dosen. Humphreys und Raab²⁸, fanden am Menschen, daß die Wirksamkeit des Arterenol auf die Reduktion der Eosinophilenzahl nur ein Sechstel der des Adrenalin beträgt. Auch Scott²⁹ stellte bei adrenaletomierten Mäusen fest, daß erst die gegenüber Adrenalin sechsfache Arterenoldosis eine maximale Eosinopenie macht. Auch bezüglich der Wirkung auf Glykogenolyse und Glykämie wurden über Wirkungen des Arterenol mit nur ein Fünftel bis ein Zehntel der Adrenalinwirkung angegeben (Sahyun u. Webster³⁰). Das gleiche trifft für den Anstieg der Milchsäure und des Kaliums im Blut zu, der unter Arterenol weit geringer ist als unter Adrenalin (Lundholm³¹; Bearn³²;

D' S i l v a ³³). Auch die Ascorbinsäureverarmung der Nebennieren tritt bei gleichem Effekt erst unter der fünffach höheren Dosis von Arterenol gegenüber Adrenalin ein (N a s m y t h ³⁴ ; R o n z o n i ³⁵ ; J a r r e t t ³⁶). Dagegen fanden C h e n ; P o r t m a n ; R u s s e l l und E n s o r ³⁷ , Arterenol und Adrenalin in Bezug auf die Ascorbinsäuredepletion gleich aktiv. Im Hinblick auf die hyaluronidasehemmende Wirkung haben wir zumindest keine wesentlichen Wirkungsunterschiede zwischen Adrenalin und Arterenol feststellen können.

Die Versuchsreihen 8 bis 15 sollten eine etwaige Dosisabhängigkeit der betreffenden Katecholamine auf das Ausmaß der Hyaluronidasehemmung klären. Dabei zeigte sich die erstaunliche Tatsache, daß nach 1γ Adrenalin und 1γ Arterenol das Maximum der Hemmung mit 52 % bzw. 57 % bei 15 Minuten nach der Injektion, also früher als nach 6γ liegt.

In den Versuchsreihen 16 bis 19 wurde die Adrenalin- bzw. Arterenol-Dosis auf $0,5\gamma$ i.v. weiter verringert. Hierbei sahen wir, daß mit 9,8 % bzw. 12,1 % (15 Minuten nach Injektion) eine nennenswerte Hyaluronidasehemmung nicht mehr eintritt. Die notwendige Mindestdosis um eine maximale Hyaluronidasehemmung zu erzielen, liegt also anscheinend zwischen $0,5\gamma$ und 1γ Adrenalin bzw. Arterenol. Darüber ist das Ausmaß der Hemmung bei niedrigeren Dosen anscheinend etwas größer und der Zeitpunkt des Eintretens entfernt sich bei höheren Dosen vom Zeitpunkt der Katecholamininjektion.

Wegen fehlender Mittel zur Tierbeschaffung war es leider nicht möglich, weitere Zwischenwerte festzuhalten, nachdem durch die vorliegenden Versuche die Verhältnisse wenigstens in ihren Grundzügen geklärt werden konnten.

Die Kontrolle der Pupillenweite zeigt in Übereinstimmung mit M a t h i e s ¹³ und M a t h i e s u. J a n k o w s k i ⁷, daß

die Hyaluronidasehemmung durch Adrenalin erst nach Abklingen der primären Adrenalinwirkung in der Gegenregulationsphase eintritt. Die Tatsache, daß nach 1 γ Adrenalin die Hyaluronidasehemmung früher eintritt als nach 6 γ möchten wir dadurch erklären, daß 1 γ natürlich schneller abgebaut und unwirksam wird als 6 γ , so daß die Gegenregulationsphase schneller eintritt. Nach Arterenol in den niedrigen Dosen war naturgemäß keine verwertbare Veränderung der Pupillenweite zu erwarten. Die Vergleiche mit den Adrenalingaben in jeweils gleicher Dosierung und die Verhältnisse bei höherer Arterenoldosierung zeigten jedoch; daß auch auf Arterenol eine Gegenregulation erfolgen muß, die im Hinblick auf die Hyaluronidasehemmung den gleichen Mechanismus in Gang setzt wie Adrenalin. Der anders gelagerten hormonellen Natur des Arterenol nach ist diese Gegenregulation in Bezug auf die vegetative Funktion gegenüber den Verhältnissen beim Adrenalin sicher nicht vollständig bzw. ebenfalls anders gelagert. Die Gegenregulation erfaßt aber jedenfalls den Sektor mit, der den hyaluronidasehemmenden Effekt beinhaltet.

Die Versuche zeigen im Zusammenhang mit den erwähnten Arbeiten von M a t h i e s u. Mitarb. 6, 7, 9 - 18, daß zum Zustandekommen der Hyaluronidasehemmung durch in vivo hyaluronidasehemmende Substanzen eine Katecholaminausschüttung aus dem Nebennierenmark notwendig ist, wobei sowohl Adrenalin als auch Arterenol in gleicher Menge einen nicht wesentlich abweichenden Effekt entfalten. Bei Mengenbestimmungen unter hyaluronidasehemmenden Stoffen ausgeschütteter Katecholamine mit Methoden, die Adrenalin und Arterenol gemeinsam erfassen, ist es also primär nicht notwendig, beide Katecholamine zu trennen, um den Anteil des hyaluronidasehemmend wirksamen Nebennierenmark-Hormons zu erhalten, da beide eben annähernd gleich wirksam sind. Von dieser Feststellung bleiben natürlich Interessen unberührt, die aus anderen Überlegungen heraus eine Trennung erforderlich erscheinen lassen.

Tier- Nr.	Farbstoff- Quaddel	Farbstoff+ Hyaluronidase- Quaddel	Farbstoff- Quaddel	Farbstoff+ Hyaluronidase- Quaddel
	v o r Adrenalin i.v.		15' n a c h	6γ Adrenalin i.v.
1	122	206	136	210
2	132	202	134	190
3	130	234	140	220
4	126	182	126	206
5	130	202	124	198
$\bar{x}$	128	205	132	205

Tabelle 1 (adrenalectomierte Ratten)

Tier- Nr.	Farbstoff- Quaddel	Farbstoff+ Hyaluronidase- Quaddel	Farbstoff+ Hyaluronidase- Quaddel
	v o r Adrenalin i.v.		45' n a c h 6γ Adrenalin i.v.
1	122	206	160
2	132	202	192
3	130	234	180
4	126	182	170
5	130	202	184
$\bar{x}$	128	205	177

Tabelle 2 (adrenalectomierte Ratten)

Tier-Nr.	Farbstoff-Quaddel	Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel	Farbstoff-Quaddel	Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel
	v o r Adrenalin i.v.		90' n a c h 6γ Adrenalin i.v.	
6	136	258	132	200
7	126	194	128	190
8	140	220	142	200
$\bar{x}$	134	224	134	197

Tabelle 3 (adrenaletomierte Ratten)

Tier-Nr.	Farbstoff-Quaddel	Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel	Farbstoff-Quaddel	Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel
	v o r Arterenol i.v.		15' n a c h 6γ Arterenol i.v.	
9	127	198	136	210
10	128	197	139	216
11	129	200	153	212
12	132	212	131	204
13	133	220	152	213
$\bar{x}$	130	205	142	211

Tabelle 4 (adrenaletomierte Ratten)

Tier-Nr.	Farbstoff-Quaddel	Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel	Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel
	v o r Arterenol i.v.		30' n a c h 6γ Arterenol i.v.
9	127	198	156
11	129	200	187
12	132	212	174
13	133	220	213
$\bar{x}$	130	208	182

Tabelle 5 (adrenaletomierte Ratten)

Tier-Nr.	Farbstoff-Quaddel	Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel	Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel
	v o r Arterenol i.v.		45' n a c h 6γ Arterenol i.v.
10	128	197	167
11	129	200	169
12	132	212	160
13	133	220	185
$\bar{x}$	130	207	170

Tabelle 6 (adrenaletomierte Ratten)

Tier-Nr.	Farbstoff-Quaddel	Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel	Farbstoff-Quaddel	Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel
	v o r Arterenol i.v.		90' n a c h 6γ Arterenol i.v.	
14	128	196	130	180
15	133	224	128	194
16	130	212	134	192
17	135	206	140	188
$\bar{x}$	131	210	133	188

Tabelle 7 (adrenalectomierte Ratten)

Tier-Nr.	Farbstoff-Quaddel	Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel	Farbstoff-Quaddel	Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel
	v o r Adrenalin i.v.		0' n a c h 1γ Adrenalin i.v.	
18	133	216	129	210
19	125	208	126	206
20	123	194	130	190
21	133	200	126	198
$\bar{x}$	128	205	129	201

Tabelle 8 (adrenalectomierte Ratten)

Tier- nr.	Farbstoff- Quaddel	Farbstoff+ Hyaluronidase- Quaddel	Farbstoff- Quaddel	Farbstoff+ Hyaluronidase- Quaddel
	v o r Adrenalin i.v.		15' n a c h	1½ Adrenalin i.v.
22	120	214	124	156
23	130	186	126	138
24	126	208	130	164
25	122	206	126	190
$\bar{x}$	124	204	128	162

Tabelle 9 (adrenaletomierte Ratten)

Tier- Nr.	Farbstoff- Quaddel	Farbstoff+ Hyaluronidase- Quaddel	Farbstoff+ Hyaluronidase- Quaddel
	v o r Adrenalin i.v.		45' n a c h 1½ Adrenalin i.v.
22	120	214	170
23	130	186	174
24	126	208	178
25	122	206	198
$\bar{x}$	124	204	180

Tabelle 10 (adrenaletomierte Ratten)

Tier- Nr.	Farbstoff- Quaddel	Farbstoff+ Hyaluronidase- Quaddel	Farbstoff- Quaddel	Farbstoff+ Hyaluronidase- Quaddel
	v o r Arterenol i.v.		O' n a c h 1½ Arterenol i.v.	
26	112	216	112	221
27	140	221	129	220
28	124	240	129	220
29	128	232	150	216
30	133	200	129	204
31	131	203	131	213
32	139	207	131	213
33	125	194	129	193
34	123	230	130	223
35	132	206	130	210
$\bar{x}$	129	215	130	213

Tabelle 11 (adrenalektomierte Ratten)

Tier- Nr.	Farbstoff- Quaddel	Farbstoff+ Hyaluronidase- Quaddel	Farbstoff- Quaddel	Farbstoff+ Hyaluronidase- Quaddel
	v o r Arterenol i.v.		15' n a c h 1½ Arterenol i.v.	
36	140	267	140	192
37	128	223	117	160
38	121	228	133	193
39	145	220	127	161
40	137	225	123	169
41	124	219	123	163
42	125	233	128	161
43	132	208	125	147
44	128	231	125	198
45	147	219	150	187
$\bar{x}$	133	227	129	173

Tabelle 12 (adrenalectomierte Ratten)

Tier- Nr.	Farbstoff- Quaddel	Farbstoff+ Hyaluronidase- Quaddel	Farbstoff- Quaddel	Farbstoff+ Hyaluronidase- Quaddel
	v o r Arterenol i.v.		30' n a c h	1½ Arterenol i.v.
46	124	240	129	161
47	128	232	150	205
48	139	207	131	169
49	125	194	129	143
50	123	230	130	181
51	137	225	123	177
52	124	219	123	163
53	131	208	125	157
$\bar{x}$	129	219	130	169

Tabelle 13 (adrenalectomierte Ratten)

Tier- Nr.	Farbstoff- Quaddel	Farbstoff+ Hyaluronidase- Quaddel	Farbstoff- Quaddel	Farbstoff+ Hyaluronidase- Quaddel
	v o r Arterenol i.v.		45' n a c h 1½ Arterenol i.v.	
54	129	230	126	188
55	131	220	145	174
56	125	232	120	208
57	129	224	125	197
58	160	218	132	209
59	151	240	134	216
60	135	224	134	171
61	120	176	121	165
62	129	225	123	188
63	121	201	123	165
$\bar{x}$	133	219	128	188

Tabelle 14 (adrenalectomierte Ratten)

Tier- Nr.	Farbstoff-	Farbstoff+	Farbstoff-	Farbstoff+
	Quaddel	Hyaluronidase- Quaddel	Quaddel	Hyaluronidase- Quaddel
	v o r Arterenol i.v.		90' n a c h 1 $\frac{1}{2}$ Arterenol i.v.	
64	116	213	128	216
65	133	217	132	211
66	117	200	140	195
67	138	185	144	175
68	136	201	132	205
69	130	201	128	196
70	129	195	136	200
71	138	212	131	207
72	130	212	127	211
73	136	204	128	208
$\bar{x}$	130	204	132	202

Tabelle 15 (adrenaletomierte Ratten)

Tier-Nr.	Farbstoff-Quaddel	Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel	Farbstoff-Quaddel	Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel
	v o r Adrenalin i.v.		15' n a c h 0,5 γ Adrenalin i.	
74	126	182	128	174
75	142	220	138	208
76	140	228	142	224
77	122	186	126	182
$\bar{x}$	132	204	133	197

Tabelle 16 (adrenalectomierte Ratten)

Tier-Nr.	Farbstoff-Quaddel	Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel	Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel
	v o r Adrenalin i.v.		45' n a c h 0,5 γ Adrenalin i.
74	126	182	180
75	142	220	212
76	140	228	220
77	122	186	184
$\bar{x}$	132	204	199

Tabelle 17 (adrenalectomierte Ratten)

Tier- Nr.	Farbstoff- Quaddel	Farbstoff+ Hyaluronidase- Quaddel	Farbstoff- Quaddel	Farbstoff+ Hyaluronidase- Quaddel
	v o r Arterenol i.v.		15' n a c h 0,5γ Arterenol i.v.	
78	141	181	136	166
79	148	244	142	218
80	138	200	140	208
81	142	222	140	210
82	130	200	134	203
$\bar{x}$	140	209	138	201

Tabelle 18 (adrenaletomierte Ratten)

Tier-Nr.	Farbstoff-Quaddel	Farbstoff+	Farbstoff+
		Hyaluronidase-Quaddel	Hyaluronidase-Quaddel
	v o r Arterenol i.v.		45' n a c h 0,5γ Arterenol i.v.
78	141	181	169
79	148	244	226
80	138	200	196
81	142	222	218
82	130	200	206
$\bar{x}$	140	209	203

Tabelle 19 (adrenaletomierte Ratten)

Tier- Nr.	Farbstoff- Quaddel	Farbstoff+ Hyaluronidase- Quaddel	Farbstoff- Quaddel	Farbstoff+ Hyaluronidase- Quaddel
	v o r NaCl-Lösg.		15' n a c h NaCl-Lösg. i.v. (0,25 ccm/100 g)	
83	128	233	128	220
84	128	209	125	207
85	124	178	128	192
86	132	220	138	215
87	128	175	125	171
$\bar{x}$	128	203	128	201

Tabelle 20 (adrenaletomierte Ratten)

Ver- suchs- reihe	Zeit- punkt	Farbstoff- Quaddel v o r 6 γ Adr./100 g	Farbstoff-Hyase-Quaddel v o r 6 γ Adrenalin/100 g i.v.	Tier- zahl	t _{emp.}	Hyase- hemmung
1.	15'	$\bar{x}$	205 mm ²	5	-	+ 0,5 %
		s ²	347			
		s	18,6			
2.	45'	128 mm ²	205 mm ²	5	3,79 p=1,0 %	+ 36,3 %
		16	347			
		4,0	18,6			
3.	90'	134 mm ²	224 mm ²	3	-	+ 30,4 %
		52	1,036			
		7,2	32,2			

Tabelle 21

Ver- suchs- reihe	Zeit- punkt	Farbstoff- Quaddel v o r 6 g Art./100 g		Farbstoff-Hyase-Quaddel v o r n a c h 6 g Arterrenol/100 g i.v.		Tier- zahl	t emp.	Hyase- hemmung
4.	15'	$\bar{x}$	130 mm ²	205 mm ²	211 mm ²	5	-	- 7,4 %
		s ²	7	103	20			
		s	2,6	10,1	4,5			
5.	30'	$\bar{x}$	130 mm ²	208 mm ²	182 mm ²	4	3,01 p=5,0 %	+ 32,4 %
		s ²	8	108	588			
		s	2,8	10,4	24,2			
6.	45'	$\bar{x}$	130 mm ²	207 mm ²	170 mm ²	4	7,80 p=0,1 %	+ 48,2 %
		s ²	6	114	112			
		s	2,4	10,7	10,6			
7.	90'	$\bar{x}$	131 mm ²	210 mm ²	188 mm ²	4	13,67 p=0,1 %	+ 26,9 %
		s ²	10	137	38			
		s	3,2	11,7	6,2			

Tabelle 22

Ver- suchs- reihe	Zeit- punkt	Farbstoff- Quaddel v o r 1 γ Adr./100 g	Farbstoff-Hyase-Quaddel v o r 1 γ Adrenalin/100 g i.v.	Tier- zahl	t temp.	Hyase- hemmung
8.	0'	$\bar{x}$	205 mm ²	4	-	+ 4,6 %
		s ²	93			
		s	9,6			
9.	15'	$\bar{x}$	204 mm ²	4	4,22 p=1,0 %	+ 52,5 %
		s ²	148			
		s	12,2			
10.	45'	$\bar{x}$	204 mm ²	4	4,21 p=1,0 %	+ 29,7 %
		s ²	148			
		s	12,2			

Tabelle 23

Ver- suchs- reihe	Zeit- punkt	Farbstoff- Quaddel v o r 1 g Art./100 g	Farbstoff-Hyase-Quaddel v o r 1 g Arterenol/100 g i.v.	Tier- zahl	t _{emp.}	Hyase- hemmung
11.	0'	$\bar{x}$	215 mm ²	10	-	+ 1,9 %
		s ²	237			
		s	4,9			
12.	15'	$\bar{x}$	227 mm ²	10	9,77 p=0,1 %	+ 57,2 %
		s ²	246			
		s	15,7			
13.	30'	$\bar{x}$	219 mm ²	8	13,87 p=0,1 %	+ 55,1 %
		s ²	266			
		s	16,3			
14.	45'	$\bar{x}$	219 mm ²	10	6,41 p=0,1 %	+ 35,9 %
		s ²	332			
		s	18,2			
15.	90'	$\bar{x}$	204 mm ²	10	-	+ 2,2 %
		s ²	296			
		s	17,2			

Tabelle 24

Ver- suchs- reihe	Zeit- punkt	Farbstoff- Quaddel v o r 0,5 g Adr./100 g	Farbstoff-Hyase-Quaddel v o r 0,5 g Adrenalin/100 g i.v.	Tier- zahl	t _{emp.}	Hyase- hemmung
16.	15'	$\bar{x}$	132 mm ²	4	-	+ 9,8 %
		s ²	541			
		s	23,3			
17.	45'	$\bar{x}$	132 mm ²	4	-	+ 7,0 %
		s ²	541			
		s	23,3			

Tabelle 25

Ver- suchs- reihe	Zeit- punkt	Farbstoff- Quaddel v o r 0,5 g Art./100 g	Farbstoff-Hyase-Quaddel v o r 0,5 g Arterenol/100 g i.v.	Tier- zahl	temp.	Hyase- hemmung
18.	15'	$\bar{x}$	209 mm ²	5	-	+ 12,1 %
		s ²	585			
		s	24,2			
19.	45'	$\bar{x}$	209 mm ²	5	-	+ 9,2 %
		s ²	585			
		s	24,2			

Tabelle 26

Ver- suchs- reihe	Zeit- punkt	Farbstoff- Quaddel v o r NaCl/100 g		Farbstoff-Hyase-Quaddel v o r 0,25 ccm NaCl/100 g i.v.		Tier- zahl	t emp.	Hyase- hemmung
					n a c h			
20.	15'	$\bar{x}$	128 mm ²	203 mm ²	201 mm ²	5	-	+ 2,7 %
		s ²	8	658	393			
		s	2,8	25,6	19,8			

Tabelle 27

Tier-Nr.	Zeitpunkt	Farbstoff-Quaddel v o r 1 γ Adr./100 g	Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel v o r 1 γ Adrenalin/100 g i.v.	Hyaluronidasehemmung
25	45'	122	206	+ 9,5 %
	75'	122	206	+ 32,1 %

Tabelle 28

Ergebnisse der statistischen Prüfungen.

Tabelle	Bartlett-Test			1. Prüffrage				2. Prüffrage			
	$\chi^2_{emp.}$	χ^2_p	p	$F_{emp.}$	F_p	p		t _{emp.}	t _p	p	
1.	7,210	9,210	1,0 %	79,68	18,5	0,1 %		3,79	3,36	1,0 %	
2.	7,178	9,210	1,0 %	56,15	18,5	0,1 %		-	-	-	
3.	6,696	9,210	1,0 %	24,28	18,0	0,1 %		-	-	-	
4.	7,032	9,210	1,0 %	250,80	18,5	0,1 %		-	-	-	
5.	2,775	5,991	5,0 %	41,45	27,0	0,1 %		3,01	2,45	5,0 %	
6.	5,355	5,991	5,0 %	130,96	27,0	0,1 %		7,80	5,96	0,1 %	
7.	4,506	5,991	5,0 %	224,69	27,0	0,1 %		13,67	5,96	0,1 %	
8.	1,004	5,991	5,0 %	334,68	27,0	0,1 %		-	-	-	
9.	5,752	5,991	5,0 %	31,54	27,0	0,1 %		4,22	3,71	1,0 %	
10.	3,137	5,991	5,0 %	101,26	27,0	0,1 %		4,21	3,71	1,0 %	
11.	4,248	5,991	5,0 %	206,02	10,4	0,1 %		-	-	-	
12.	1,645	5,991	5,0 %	148,53	10,4	0,1 %		9,77	3,92	0,1 %	
13.	8,922	9,210	1,0 %	316,14	11,8	0,1 %		13,87	4,14	0,1 %	
14.	1,507	5,991	5,0 %	162,20	10,4	0,1 %		6,41	3,92	0,1 %	
15.	5,078	5,991	5,0 %	184,49	10,4	0,1 %		-	-	-	
16.	0,028	5,991	5,0 %	21,65	10,9	1,0 %		-	-	-	
17.	0,081	5,991	5,0 %	20,62	10,9	1,0 %		-	-	-	
18.	5,542	5,991	5,0 %	41,72	18,5	0,1 %		-	-	-	
19.	5,734	5,991	5,0 %	45,06	18,5	0,1 %		-	-	-	
20.	12,230	9,210	1,0 %	53,09	18,5	0,1 %		-	-	-	

Tabelle 29

15' nach 6γ Adrenalin

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ
Zwischen den Tieren	4	984	246
Zwischen den Stufen	2	19.763	9.881
Rest-Varianz	8	994	124
Gesamt-Varianz	14	21.741	1.553

Tabelle 30

45' nach 6γ Adrenalin

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ
Zwischen den Tieren	4	985	246
Zwischen den Stufen	2	15.274	7.637
Rest-Varianz	8	1.089	136
Gesamt-Varianz	14	17.348	1.239

Tabelle 31

90' nach 6γ Adrenalin

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ
Zwischen den Tieren	2	1.190	595
Zwischen den Stufen	2	12.774	6.387
Rest-Varianz	4	1.053	263
Gesamt-Varianz	8	15.017	1.877

Tabelle 32

15' nach 6 γ Arterenol

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ
Zwischen den Tieren	4	192	48
Zwischen den Stufen	2	20.567	10.283
Rest-Varianz	8	326	41
Gesamt-Varianz	14	21.085	1.506

Tabelle 33

30' nach 6 γ Arterenol

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ
Zwischen den Tieren	3	1.219	406
Zwischen den Stufen	2	12.390	6.190
Rest-Varianz	6	892	149
Gesamt-Varianz	11	14.501	1.318

Tabelle 34

45' nach 6 γ Arterenol

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ
Zwischen den Tieren	3	424	141
Zwischen den Stufen	2	11.786	5.893
Rest-Varianz	6	271	45
Gesamt-Varianz	11	12.481	1.135

Tabelle 35

90' nach 6 y Arterenol

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ
Zwischen den Tieren	3	378	126
Zwischen den Stufen	2	13.032	6.516
Rest-Varianz	6	177	29
Gesamt-Varianz	11	13.587	1.235

Tabelle 36

0' nach 1 y Adrenalin

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ
Zwischen den Tieren	3	463	154
Zwischen den Stufen	2	14.726	7.363
Rest-Varianz	6	131	22
Gesamt-Varianz	11	15.320	1.393

Tabelle 37

15' nach 1 y Adrenalin

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ
Zwischen den Tieren	3	715	238
Zwischen den Stufen	2	12.493	6.246
Rest-Varianz	6	1.187	198
Gesamt-Varianz	11	14.395	1.309

Tabelle 38

45' nach 1 γ Adrenalin

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ
Zwischen den Tieren	3	227	76
Zwischen den Stufen	2	13.165	6.582
Rest-Varianz	6	391	65
Gesamt-Varianz	11	13.783	1.253

Tabelle 39

0' nach 1 γ Arterenol

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ
Zwischen den Tieren	9	1.388	154
Zwischen den Stufen	2	48.630	24.310
Rest-Varianz	13	2.121	118
Gesamt-Varianz	29	52.139	1.798

Tabelle 40

15' nach 1 γ Arterenol

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ
Zwischen den Tieren	9	3.028	336
Zwischen den Stufen	2	45.154	22.577
Rest-Varianz	18	2.759	153
Gesamt-Varianz	29	50.941	1.757

Tabelle 41

30' nach 1 γ Arterenol

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ
Zwischen den Tieren	7	3.845	549
Zwischen den Stufen	2	32.875	16.437
Rest-Varianz	14	732	52
Gesamt-Varianz	23	37.432	1.627

Tabelle 42

45' nach 1 γ Arterenol

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ
Zwischen den Tieren	9	5.617	624
Zwischen den Stufen	2	37.956	18.978
Rest-Varianz	18	2.110	117
Gesamt-Varianz	29	45.683	1.575

Tabelle 43

90' nach 1 γ Arterenol

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ
Zwischen den Tieren	9	1.286	143
Zwischen den Stufen	2	34.869	17.434
Rest-Varianz	18	3.403	189
Gesamt-Varianz	29	39.558	1.364

Tabelle 44

15' nach 0,5 γ Adrenalin

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ
Zwischen den Tieren	3	3.100	1.033
Zwischen den Stufen	2	11.304	5.652
Rest-Varianz	6	1.568	261
Gesamt-Varianz	11	15.972	1.452

Tabelle 45

45' nach 0,5 γ Adrenalin

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ
Zwischen den Tieren	3	2.796	932
Zwischen den Stufen	2	11.421	5.711
Rest-Varianz	6	1.664	277
Gesamt-Varianz	11	15.881	1.444

Tabelle 46

15' nach 0,5 γ Arterenol

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ
Zwischen den Tieren	4	2.775	694
Zwischen den Stufen	2	14.434	7.217
Rest-Varianz	8	1.385	173
Gesamt-Varianz	14	18.594	1.328

Tabelle 47

45' nach 0,5_g Arterenol

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ
Zwischen den Tieren	4	3.186	796
Zwischen den Stufen	2	14.799	7.399
Rest-Varianz	8	1.294	162
Gesamt-Varianz	14	19.279	1.377

Tabelle 48

15' nach 0,25 ccm/100 g NaCl-Lösg.

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ
Zwischen den Tieren	4	2.859	715
Zwischen den Stufen	2	18.263	9.131
Rest-Varianz	8	1.381	172
Gesamt-Varianz	14	22.503	1.607

Tabelle 49

Ver- suchs- reihe	Fehler- Varianz	mittlerer Fehler	Vergleich		
			Fehler-Varianz mit Rest-Varianz		
			$F_{\text{emp.}}$	F_p	p
1.	30,0	$\pm 1,9$	4,96	4,82	5,0 %
4.	114,0	$\pm 3,4$	2,78	3,69	5,0 %
7.	8,7	$\pm 2,1$	3,22	6,16	5,0 %
8.	14,5	$\pm 2,7$	1,47	6,16	5,0 %
10.	13,5	$\pm 2,6$	4,64	6,16	5,0 %
11.	39,0	$\pm 4,4$	3,03	2,80	5,0 %
12.	42,5	$\pm 4,6$	3,56	2,80	5,0 %
13.	54,5	$\pm 5,2$	1,05	2,70	5,0 %
14.	68,1	$\pm 5,8$	1,72	2,80	5,0 %
15.	45,1	$\pm 4,7$	4,19	2,80	5,0 %
16.	5,0	$\pm 1,6$	52,2	50,5	0,1 %
18.	8,2	$\pm 2,8$	21,1	10,3	1,0 %
20.	7,0	$\pm 1,8$	24,5	14,8	1,0 %

Tabelle 50

Zusammenfassung

Zweck der Versuche war, einen Beitrag zur Aufklärung des Wirkungsmechanismus permeabilitätsherabsetzender Mittel zu leisten. Die Bedeutung dieser therapeutischen Effekte chemischer Substanzen wurde in letzter Zeit auch in der Zahnheilkunde im Hinblick auf die Behandlung bzw. Verhinderung der postoperativen Schwellungen hervorgehoben. Ein Faktor, der die Permeabilität der Grenzflächen maßgeblich beeinflusst, ist die Hyaluronidase, indem diese die Permeabilität erhöht und hyaluronidasehemmende Substanzen sie herabsetzen. Im Anschluß an vorliegende Publikationen, die nachweisen, daß der Wirkungsmechanismus der Hyaluronidasehemmung über das Nebennierenmark mit einer Katecholaminausschüttung läuft, wurde in der vorliegenden Arbeit an adrenaletomierten Ratten mit einem Spreading-Test gezeigt, daß im einzelnen Adrenalin und Arterenol in gleichen Dosen annähernd das gleiche Ausmaß und den gleichen zeitlichen Ablauf der Hyaluronidasehemmung ergeben. Versuche mit unterschiedlichen Dosen beider Katecholamine ließen erkennen, daß zur Erzielung einer nennenswerten Hyaluronidasehemmung eine Mindestdosis notwendig ist, die zwischen 0,5 μ und 1 μ Katecholamine/100 g Tier liegt. Bei steigenden Dosen tritt dann die maximale Hyaluronidasehemmung später auf und wird in ihrem Ausmaß etwas geringer. Die Arbeit zeigt also im Zusammenhang mit bisher vorliegenden Ergebnissen, daß hyaluronidasehemmende Substanzen, die die Permeabilität herabsetzen, über eine Katecholaminausschüttung aus dem Nebennierenmark wirken, wobei eine Mindestmenge ausgeschüttet werden muß und es für das Ausmaß der Wirkung gleichgültig ist, ob es sich um Adrenalin oder Arterenol handelt. Die Versuche zeigten ferner auch beim Arterenol, daß wie beim Adrenalin die Hyaluronidasehemmung erst nach Abklingen der primären Katecholaminwirkung in der Gegenregulationsphase erkennbar wird. Das Phänomen eines späteren Eintritts der Hyaluronidasehemmung bei höheren Dosen Adrenalin bzw. Arterenol wird dadurch erklärt, daß eine größere Menge Katecholamine auch später unwirksam wird und die Gegenregulation entsprechend später einsetzt.

Literaturverzeichnis

- 1 Schuchardt, K./ Meyer, W./ Häupl, K.: Die Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde Bd. 3, Teil 1: 322 ff. (1955), Urban u. Schwarzenberg München/Berlin
- 2 Hardt, H.L.: Dtsch. Zahnärztl. Zschr. 8 (1953), 1136
- 3 Kristen, K.: Zahnärztl. Reform 56 (1955), 292
- 4 Göbl, A.: Dtsch. Zahnärztl. Zschr. 11 (1956), 211
- 5 Domenjoz, R.: Arch. exper. Path. u. Pharmacol. 225 (1955), 14
- 6 Mathies, H.: Arzneimittelforsch. eingereicht
- 7 Mathies, H./ Jankowski, A.: Klin. Wschr. 35 (1957), 892
- 8 Dewes, R.: Arch. int. pharmacodyn. CIV (1955), Nr. 1
- 9 Mathies, H.: Die Bedeutung der Nebennieren für die Hyasehemmung durch Phenylbutazon, im Manuskript
- 10 Mathies, H.: Über den Mechanismus der hyasehemmenden Wirkung der Glucocorticoide, im Manuskript
- 11 Hartmann, M.: Diss. München in Vorbereitung
- 12 Wiesmüller, J.: Diss. München in Vorbereitung
- 13 Mathies, H.: Ärztl. Forsch. im Druck
- 14 Mathies, H.: Med. Mschr. 11 (1957), 791
- 15 Mathies, H.: Die Katecholaminausschüttung der Nebenniere unter Phenylbutazon und ihre Bedeutung für die Hyasehemmung, im Manuskript
- 16 Mathies, H.: Über den Mechanismus der hyasehemmenden Wirkung der Glucocorticoide, im Manuskript
- 17 Biechele, I.: Diss. München in Vorbereitung
- 18 Kuepach, M.v.: Diss. München 1957
- 19 Brüggemann, J./ Karg, H./ Käppeler, O.: Vitamine und Hormone 7 (1956), 200
- 20 Hökfelt, B.: Acta Physiol. Scand. 25 (1951), 92
- 21 Wilhelmi, G.: zit. Domenjoz (5)
- 22 Madinaveitia, J.: Biochemie. J. 32 (1938), 1806

- 23 Gibian, H.: *Erg. d. Enzymforsch.* 13 (1954), 1
- 24 Karg, H.: persönliche Mitteilung
- 25 Bachmann, R.: *Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen* VI/5 (1954) 222 ff.; Springer, Berlin/ Göttingen/ Heidelberg
- 26 Canalis, P.: *Intern. Mschr. Anat.* 4 (1887 a), 312
zit. Bachmann (25)
- 27 Dougherty, T.F./ White, A.: *Endocrinology* 35 (1944), 1
- 28 Humphreys, R.J./ Raab, W.: *Proc. Soc. exper. Biol.*
a. Med. 74 (1950), 302
- 29 Scott, Kimball, J.: *Endocrinology* 50 (1952), 585
- 30 Sahyun, M./ Webster, G.E.: *Arch. internat. pharmacodyn*
45 (1953), 291
- 31 Lundholm, L.: *Acta physiol. Scandinav.* 21 (1950), 195
- 32 Bearn, A.G./ Billing, B./ Sherlock, S.: *J. Physiol.* 115
(1951), 430
- 33 D' Silva, J.L.: *J. Physiol.* 108 (1949), 218
- 34 Nasmyth, P.A.: *J. Physiol.* 110 (1949), 294
- 35 Ronzoni, E./ Reichlin, S.: *Am. J. Physiol.* 160 (1950), 490
- 36 Jarrett, I.G.: *Brit. J. Pharmacol.* 6 (1951), 294
- 37 Chen, G./ Portman, R./ Russell, D./ Ensor, Ch.R.: *J. Am. Pharm.*
A. (Scient. Ed.)
40 (1951), 273

Abschließend möchte ich Herrn Professor Dr. W. Seitz für die Überlassung des Themas und die Übernahme des Referates herzlich danken.

Herrn Dr. H. Mathies bin ich für die Einführung in die Methodik, die Anregungen zu dieser Arbeit und für ihre Gestaltung zu besonderem Dank verbunden.

Außerdem möchte ich Herrn Diplom-Mathematiker K. G. Liebrich für die Beratung in der statistischen Auswertung der Versuchsergebnisse danken.

Lebenslauf.

Ich wurde am 3. 6. 1928 in Erbach, Kreis Ulm, geboren, besuchte in Ulm die Volksschule und später das heutige Schubart-Gymnasium bis zu meiner Einberufung zum RAD im Januar 1945. Mit Wiederaufnahme des Schulunterrichts im November 1945 trat ich meiner alten Schule bei und bestand im Juni 1949 die Reifeprüfung.

Anschließend daran begann ich bei Zahnarzt A. R. Strauß in Ulm als Dentistenpraktikant zu arbeiten, legte im September 1952 die Prüfung zum Dentisten-Assistenten ab und war bis zur Aufnahme des Studiums der Zahnheilkunde, im Mai 1953, als Dentisten-Assistent tätig.

Nach fünf Semestern in München, setzte ich mein Studium in Würzburg fort bis zum Abschluß mit dem Staatsexamen im März 1957.

Ab April 1957 war ich als Assistent bei Herrn Dr. B. Weckerle in Weißenhorn beschäftigt und begann im Herbst 1957 mit der Bearbeitung meines Promotionsthemas an der Med. Poliklinik in München.

